

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-238426

(43)Date of publication of application : 27.08.2003

(51)Int.Cl.

A61K 35/78  
A23L 1/30  
A61K 7/00  
A61K 7/48  
A61K 31/353  
A61P 17/00  
A61P 43/00

(21)Application number : 2002-040564

(71)Applicant : TOYO SHINYAKU:KK

(22)Date of filing : 18.02.2002

(72)Inventor : TAKAGAKI KINYA  
MARUYAMA SHINJIRO

(54) COLLAGENASE INHIBITOR, SKIN EXTERNAL AGENT AND HEALTH FOOD

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a new collagenase inhibitor.

SOLUTION: This new collagenase inhibitor contains a pine bark extract. Especially, the collagenase inhibitor contains  $\geq 20$  wt.% OPC (oligomeric prothocyanidine) and  $\geq 5$  wt.% catechin is preferable. The skin external agent with the collagenase inhibitor can be provided as the skin external agent inhibiting collagenase, and also by adding the collagenase inhibitor to a food, the health food for inhibiting collagenase is provided. Since these are derived from natural products, they are safe.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

27.08.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-238426

(P2003-238426A)

(43) 公開日 平成15年8月27日 (2003.8.27)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	B 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 3
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	D 4 C 0 8 6
	7/48	7/48	K 4 C 0 8 8

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-40564(P2002-40564)

(22) 出願日 平成14年2月18日 (2002.2.18)

特許法第30条第1項適用申請有り

(71) 出願人 398028503

株式会社東洋新薬

福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目19番27号 九筋リクルート博多ビル6階

(72) 発明者 高垣 欣也

福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目19番27号 株式会社東洋新薬内

(72) 発明者 丸山 真二郎

福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目19番27号 株式会社東洋新薬内

(74) 代理人 100079577

弁理士 岡田 全啓

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コラゲナーゼ阻害剤、皮膚外用剤および健康食品

(57) 【要約】

【課題】 新規なコラゲナーゼ阻害剤を提供することを目的とする。

【解決手段】 松樹皮抽出物を含有させたコラゲナーゼ阻害剤により、新規なコラゲナーゼ阻害剤を提供する。特に、OPCを20重量%以上、かつ、カテキン類を5重量%以上含有する松樹皮抽出物を含有させたコラゲナーゼ阻害剤が、コラゲナーゼ阻害剤としては好ましく、また、このコラゲナーゼ阻害剤を含有させた皮膚外用剤は、コラゲナーゼを阻害する皮膚外用剤として、更に、このコラゲナーゼ阻害剤を食品に添加することにより、コラゲナーゼを阻害する健康食品として提供することができる。これらは、天然物に由来するものであるから、安全である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 松樹皮抽出物を含有することを特徴とするコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項2】 前記松樹皮抽出物が、オリゴメリック・プロアントシアニジン (oligomeric proanthocyanidin) を20重量%以上含有することを特徴とする、請求項1に記載のコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項3】 前記松樹皮抽出物が、さらにカテキン (catechin) 類を5重量%以上含有することを特徴とする、請求項1または2に記載のコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項4】 請求項1から3のいずれかの項に記載のコラゲナーゼ阻害剤を含有する、皮膚外用剤。

【請求項5】 請求項1から3のいずれかの項に記載のコラゲナーゼ阻害剤を含有する、健康食品。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、松樹皮抽出物を含有するコラゲナーゼ阻害剤ならびにこのコラゲナーゼ阻害剤を含有する皮膚外用剤および健康食品に関する。

## 【0002】

【従来の技術】コラーゲンは皮膚の主成分であり、ヒトの体内の25～30%を占める弾力性のある繊維状のタンパク質である。コラーゲンが正常ならば張りがあり、滑らかな肌となり、血管においては、弾力のある血管が形成され動脈硬化などが起こりにくい。しかしながら、コラーゲンは、体内でコラゲナーゼの作用により分解されてしまうことから、コラーゲンの分解を防止するために、コラゲナーゼの作用を阻害する種々の物質が研究されている。そして、近年、食品や化粧品の安全性に対する関心が高まるにつれて、コラーゲンの分解を防止するコラゲナーゼ阻害剤についても、安全性の高い天然素材由来のものが求められるようになってきた。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】上記状況に鑑み、本発明の目的は、安全性の高い天然素材由来の新規のコラゲナーゼ阻害剤およびそれを含有する皮膚外用剤および健康食品を提供することにある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、コラゲナーゼの作用を阻害する天然素材の探索を行った結果、松樹皮抽出物がコラゲナーゼの作用を阻害することを見出して、本発明の完成に至った。本発明は、松樹皮抽出物を含有することを特徴とするコラゲナーゼ阻害剤である。好ましい実施の態様においては、前記松樹皮抽出物が、オリゴメリック・プロアントシアニジン (oligomeric proanthocyanidin) を20重量%以上含有するコラゲナーゼ阻害剤である。別の好ましい実施態様では、本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、前記松樹皮抽出物が、さらにカテキン (catechin) 類を5重量%以上含有する。また、本発明は、上記コラゲナーゼ阻害剤を含有する皮

膚外用剤である。さらに、本発明は、上記コラゲナーゼ阻害剤を含有する健康食品である。

## 【0005】

【発明の実施の形態】以下、本発明のコラゲナーゼ阻害剤について説明する。なお、以下に説明する構成は、本発明を限定するものでなく、本発明の趣旨の範囲内で種々改変することができる。

【0006】本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、松樹皮抽出物を含有することを特徴とする。松樹皮抽出物としては、フランス海岸松 (Pinus Martima)、カラマツ、クロマツ、アカマツ、ヒメコマツ、ゴヨウマツ、チョウセンマツ、ハイマツ、リュウキュウマツ、ウツクシマツ、ダイオウマツ、シロマツ、カナダのケベック地方のアネダ等の樹皮抽出物が好ましく用いられる。中でも、フランス海岸松 (Pinus Martima) の樹皮抽出物が好ましく用いられる。

【0007】フランス海岸松は、南仏の大西洋沿岸の一部に生育している海洋性松をいう。このフランス海岸松の樹皮は、プロアントシアニジン (proanthocyanidin)、有機酸並びにその他の生理活性成分等を含有し、主要成分であるフラボノイド類のプロアントシアニジンに、活性酸素を除去する強い抗酸化作用があることが知られている。

【0008】松樹皮抽出物は、上記松の樹皮を水または有機溶媒で抽出して得られる。水を用いる場合には温水、熱水が用いられる。抽出に用いる有機溶媒としては、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、ブタン、アセトン、ヘキサン、シクロヘキサン、プロピレングリコール、含水エタノール、含水プロピレングリコール、エチルメチルケトン、グリセリン、酢酸メチル、酢酸エチル、ジエチルエーテル、シクロロメタン、食用油脂、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタン等の食品あるいは薬剤の製造に許容される有機溶媒が好ましく用いられる。これらの水、有機溶媒は単独で用いてもよいし、組合わせて用いてもよい。特に、熱水、含水エタノール、含水プロピレングリコール等が好ましく用いられる。

【0009】松樹皮からの抽出方法は特に制限はないが、例えば、加温抽出法、超臨界流体抽出法などが用いられる。

【0010】超臨界流体抽出法とは、物質の気液の臨界点 (臨界温度、臨界圧力) を超えた状態の流体である超臨界流体を用いて抽出を行う方法である。超臨界流体としては、二酸化炭素、エチレン、プロパン、亜酸化窒素 (笑気ガス) 等が用いられるが、二酸化炭素が好ましく用いられる。超臨界流体抽出法では、目的成分を超臨界流体によって抽出する抽出工程と、目的成分と超臨界流体を分離する分離工程とを行う。分離工程では、圧力変化による抽出分離、温度変化による抽出分離、吸着剤・

吸収剤を用いた抽出分離のいずれを行ってもよい。また、エントレーナー添加法による超臨界流体抽出を行ってもよい。この方法は、抽出流体に、例えば、エタノール、プロパノール、*n*-ヘキサン、アセトン、トルエンその他の脂肪族低級アルコール類、脂肪族炭化水素類、芳香族炭化水素類、ケトン類を2~20W/V%（重量対容量百分率）程度添加し、この流体で超臨界流体抽出を行うことによって、OPC、カテキン類などの目的とする抽出物の抽出溶媒に対する溶解度を飛躍的に上昇させる、あるいは分離の選択性を増強させる方法であり、10 効率な松樹皮抽出物を得る方法である。

【0011】超臨界流体抽出法は、比較的低い温度で操作できるため、高温で変質・分解する物質にも適用できるという利点、抽出流体が残留しないという利点、溶媒の循環利用が可能であり、脱溶媒工程などが省略でき、工程がシンプルになるという利点がある。また、松樹皮の抽出は、液体二酸化炭素回分法、液体二酸化炭素還流法、超臨界二酸化炭素還流法等により行ってもよい。また、松樹皮の抽出は、複数の抽出方法を組み合わせてもよい。複数の抽出方法を組み合わせることにより、種々の組成の松樹皮抽出物を得ることが可能となる。

【0012】本発明に用いられる松樹皮抽出物には、プロアントシアニジンの縮重合体、すなわち、フラバン-3-オールおよび/またはフラバン-3, 4-ジオールを構成単位とする重合度が2以上の縮重合体が含まれているが、松樹皮抽出物としては、重合度の低い縮重合体を含むものが好ましく用いられる。重合度が2~30の縮重合体（2~30量体）を含むものが好ましく、重合度が2~10の縮重合体（2~10量体）を含むものがより好ましく、重合度が2~4の縮重合体（2~4量体）を含むものが、吸収性や浸透性に優れることから、さらに好ましく用いられる。

【0013】本明細書では、プロアントシアニジンの縮重合体のうち、フラバン-3-オールおよび/またはフラバン-3, 4-ジオールを構成単位とする重合度が2~4の重合体を、オリゴメリック・プロアントシアニン（oligomeric proanthocyanidin、以下「OPC」という）という。OPCは、ポリフェノールの一種で、植物が作り出す強力な抗酸化物質であり、植物の葉、樹皮、果物の皮や種の部分に集中的に含まれている。具体的には、ブドウの種、松の樹皮、ピーナッツの皮、イチョウ、ニセアカシアの果実、コケモモなどに含まれている。また、西アフリカのコーラナッツ、ペルーのラタニアの根、日本の緑茶にも、OPCが含まれることが知られている。OPCは、ヒトの体内では、生成することのできない物質であることから、外部より摂取することが必要となる。このようなOPCは、抗酸化物質であるため、ガン・心臓病・脳血栓などの成人病の危険率を低下する効果、関節炎・アトピー性皮膚炎・花粉症などのアレルギー体質の改善効果等を有する。さらにOPCは、

抗酸化作用のほか、口腔内のバクテリア増殖を抑制してブラーク（歯こう）を減少させる効果、血管の弾力性を回復させる効果、血液中でのリポたんぱくが活性酸素によりダメージを受けるのを防止して、損傷した脂肪が血管の内壁に凝集し、コレステロールが付着することを防止する効果、活性酸素によって分解されたビタミンEを再生させる効果、ビタミンEの増強剤としての効果等を有することが知られている。

【0014】本発明においては、OPCを20重量%以上含有する松樹皮抽出物が好ましく用いられる。より好ましくは30重量%以上である。なお、理由は不明であるが、低重合度のOPCを含む松樹皮抽出物を用いると、重合度の高いものを含む場合と対比して、高い抗ストレス効果が得られる。ストレスが溜まると肌荒れ等を生ずることは知られており、ストレスを抑制することは肌荒れ等の防止に有益であることから、本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、直接的にコラゲナーゼの作用を阻害するばかりでなく、間接的にも美容効果のある皮膚外用剤や健康食品として有用である。

【0015】また、本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、カテキン（catechin）類を、5重量%以上含有することが好ましい。カテキン類は、松樹皮からも抽出され、松樹皮抽出物に含まれる。すなわち、カテキン類は、OPCとともに抽出され得る。

【0016】カテキン類とは、ポリヒドロキシフラバン-3-オールの総称であり、狭義のカテキンといわれている（+）-カテキンのほか、ガロカテキン、アフゼレキ、（+）-カテキンまたはガロカテキンの3-ガロイル誘導体が、天然物から単離されている。カテキン類としては、（+）-カテキン、（-）-エピカテキン、（+）-ガロカテキン、（-）-エピガロカテキン、エピガロカテキンガラート、エピカテキンガラートなどが知られている。カテキン類には、発癌抑制、動脈硬化予防、脂肪代謝異常の抑制、血圧上昇の抑制、血栓予防、抗アレルギー、抗ウイルス、抗菌、虫歯予防、口臭防止、腸内細菌叢正常化効果、活性酸素やフリーラジカルの消去作用、抗酸化作用等があることが知られている。また、カテキン類には、血糖の上昇を抑制する抗糖尿病効果があることが知られている。カテキン類は、OPCの存在下で水溶性が増すと同時に、活性化する性質がある。

【0017】本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、カテキン類を5重量%以上含有し、かつ、OPCを20重量%以上含有する松樹皮抽出物を用いることが最も好ましい。従って、OPCを20重量%以上含有する松樹皮抽出物であっても、カテキン類を5重量%以上含まない場合には、カテキン類を5重量%以上含有するように添加することが好ましい。即ち、松樹皮抽出物のカテキン類含量が5重量%未満の場合、カテキン類含量が5重量%以上となるように添加してもよい。なお、松樹皮抽出物

10

20

30

40

50

にカテキン類を添加したものであっても、本発明にいう松樹皮抽出物の範疇に属する。

【0018】本発明のコラゲナーゼ阻害剤に用いられる松樹皮抽出物は、具体的には、以下のような方法により調製されるが、これは例示であり、この方法に限定されない。

【0019】フランス海岸松の樹皮1kgを、塩化ナトリウムの飽和溶液3Lで、100℃にて30分間、抽出し、抽出液を得る（抽出工程）。その後、抽出液をろ過し、得られる不溶物を塩化ナトリウムの飽和溶液500mlで洗浄し、洗浄液を得る（洗浄工程）。この抽出液と洗浄液を合わせて、松樹皮の粗抽出液を得る。次いで、この粗抽出液に酢酸エチル250mlを添加して分液し、酢酸エチル層を回収する酢酸エチル層回収工程を5回行う。なお、この酢酸エチル層回収工程では、酢酸エチル層を、無水硫酸ナトリウム200gに直接回収する。その後、この酢酸エチル層を濾過し、濾液を元の5分の1量になるまで減圧濃縮する。濃縮された酢酸エチル層を2Lのクロロホルムに注ぎ、攪拌して得られる沈殿物を濾過により回収する。その後、この沈殿物を酢酸エチル100mlに溶解した後、再度1Lのクロロホルムに添加して沈殿させる操作を2回繰り返す洗浄工程を行う。この方法により、2~4量体のOPCを20重量%含み、かつカテキン類を5重量%以上含有する、約5gの松樹皮抽出物が得られる。

【0020】本発明の皮膚外用剤において、松樹皮抽出物の配合量は、外用剤全量中、乾燥物として0.005~20.0重量%、好ましくは0.01~10.0重量%である。0.005重量%未満であると、コラゲナーゼ阻害機能が十分に発揮されず、20.0重量%を超えると製剤化が難しいので好ましくない。また、10.0重量%以上配合してもさほど大きな効果の向上はみられない。

【0021】本発明のコラゲナーゼ阻害剤には、上記必須成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、その他の美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色剤、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

【0022】また、本発明の皮膚外用剤は、軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤等、従来皮膚外用剤に用いられる形態であればいずれでもよく、剤型は特に問わない。

【0023】本発明の健康食品において、松樹皮抽出物の配合量は、松樹皮抽出物が1日あたり50mg~2000mg、好ましくは100mg~1000mg摂取されるような形態にすると良い。

【0024】本発明の健康食品は前記松樹皮抽出物を食品に配合することにより得られる。例えば、本発明の健康食品は、松樹皮抽出物に賦形剤等を加えて、錠剤もし

くは丸剤等の形状に成型したもの、あるいは、成型せずに、散剤の形態や、その他の形態としてもよいことは当然である。また、増量剤、結合剤、増粘剤、乳化剤、着色料、香料、食品添加物、調味料等と調合したものとしてもよい。ハードカプセル、ソフトカプセルなどのカプセル剤、粉末状、顆粒状、茶状、ティーバック状、飴状、液体、ペースト状などの形態としたものとしてもよい。そしてさらに、例えば、ローヤルゼリー、ビタミン、プロテイン、卵殻カルシウム等のカルシウム、キトサン、レシチン、クロレラ末、アシタバ末、モロヘイヤ末などの栄養成分を添加することもできる。ステビア末、抹茶パウダー、レモンパウダー、はちみつ、還元麦芽糖、乳糖、糖液や調味料等を加えて味を整えてもよい。

【0025】本実施形態に係るコラゲナーゼ阻害剤およびそれを含有する健康食品は、その形状または好みに応じて、そのまま摂取しても良いし、あるいは水、お湯、牛乳などに溶解して摂取しても良く、成分を浸出させたものを摂取しても良い。

【0026】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を説明するが、本発明がこの実施例により制限されるものではない。

【0027】（性能評価試験）OPCを20重量%、カテキンを5重量%含有する松樹皮のエタノール抽出物を含む本発明のコラゲナーゼ阻害剤の阻害活性を、以下のようにして評価した。

【0028】（サンプル溶液の調製）松樹皮のエタノール抽出物を含むコラゲナーゼ阻害剤を、0.05Mトリシン緩衝液（pH=7.5）を用いて段階希釈し、サンプル溶液とした。

【0029】（酵素溶液調製）コラゲナーゼB（Roche Diagnostics GmbH）を0.05Mトリシン緩衝液（pH=7.5）を用いて0.42U/mlとなるように希釈したものを酵素溶液とした。

【0030】（基質溶液の調製）5mgのN-(3-[2-furyl]acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala（Sigma chemical）を35mlの0.05Mトリシン緩衝液（pH=7.5）に溶解させたものを基質溶液とした。

【0031】（コラゲナーゼ活性の測定）サンプル溶液と酵素溶液をそれぞれ1mlずつ混和し、37℃で1時間インキュベートした。次いで、基質溶液を1ml添加、324nmにおける吸光度の減少を3分間測定し、1分間あたりの吸光度の減少をAとした。また、比較対象として、サンプル溶液の代わりに0.05Mトリシン緩衝液（pH=7.5）を添加して得られた吸光度の減少をBとした。

【0032】得られた値を用いて、下式によりコラゲナーゼ阻害率を算出した結果を図1に示す。上記測定系において、コラゲナーゼ活性を50%阻害する濃度は、58.1μg/mlであった。

7  
 コラゲナーゼ阻害率(%) = 100 \* (B - A) / B  
 【0033】図1に示されるように、松樹皮のエタノール抽出物を含むコラゲナーゼ阻害剤は、コラゲナーゼの作用を阻害していることを示すことから、コラゲナーゼ阻害剤として有用である。

【0034】(実施例1)

化粧水

グリセリン 6 g  
 プロピレングリコール 4 g  
 オレイルアルコール 0.1 g \* 10

(実施例2)

エモリエントクリーム

マイクロクラスタリンワックス	3 g
ラノリン	3 g
ワセリン	5 g
スクワラン	9 g
オリーブ油	12 g
セスキオレイン酸ソルビタン	3 g
トリオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E, O.)	1 g
ソルビトール	9 g
アスコルビン酸	0.1 g
松樹皮抽出物	1 g
精製水	53.9 g
防腐剤	適量
香料	適量

を混合・攪拌して均一に調整し、コラゲナーゼの作用を阻害するW/O型エモリエントクリームを得た。このエモリエントクリームは保湿効果、角質柔軟効果に加え ※

8  
 ＊ポリオキシエチレンラウリルエーテル 1 g  
 エタノール 5 g  
 フェノキシエタノール 0.1 g  
 アスコルビン酸 1 g  
 松樹皮抽出物 2 g  
 精製水 80.8 g  
 を混合・攪拌して均一に調整し、コラゲナーゼの作用を阻害する化粧水を得た。  
 【0035】

※て、コラゲナーゼ阻害効果を有するため、皮膚外用剤として有用である。

【0036】

(実施例3)

健康食品(錠剤)

松樹皮抽出物	20 g
結晶セルロース	10 g
ショ糖エステル	5 g
二酸化ケイ素	2 g
卵殻カルシウム	63 g

を混合・攪拌して均一に調整し、(株)菊水製作所の打錠機(Cleanpress)を用いて打錠し、1錠220mgである錠剤としてのコラゲナーゼの作用を阻害する健康食品を得た。

【0037】

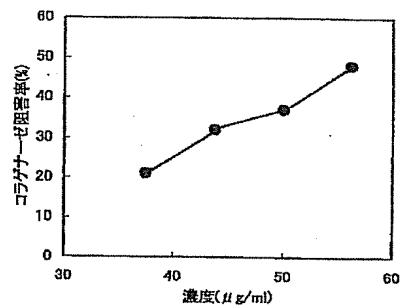
【発明の効果】以上のように、松樹皮抽出物により、コラゲナーゼの作用を阻害できることが見出されたことから、松樹皮抽出物を含有するコラゲナーゼ阻害剤を提供することができる。特に、OPCを20重量%以上かつ

40 カテキン類を5重量%以上含有する松樹皮抽出物をコラゲナーゼ阻害剤として用いることにより、優れたコラゲナーゼ阻害効果が得られる。また、コラゲナーゼ阻害剤を含有する皮膚外用剤や、コラゲナーゼ阻害剤を含有する健康食品を提供することができる。コラゲナーゼ阻害剤は天然物由来のものであるから安全であり、これを用いる皮膚外用剤、健康食品も安全である。

【図面の簡単な説明】

【図1】コラゲナーゼ阻害率を示す。

【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード (参考)
A 6 1 K 31/353		A 6 1 K 31/353	
A 6 1 P 17/00		A 6 1 P 17/00	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1

F ターム (参考) 4B018 MD07 MD61 ME14 MF01  
 4C083 AA082 AA111 AA112 AA122  
 AC012 AC022 AC072 AC122  
 AC132 AC172 AC182 AC442  
 AC841 AC842 AD642 CC04  
 CC05 DD27 DD32 EE12  
 4C086 AA01 AA02 BA08 MA01 MA04  
 NA06 NA07 ZA89 ZC20  
 4C088 AB03 AC06 BA08 BA09 BA10  
 CA05 CA06 CA07 CA08 CA09  
 NA06 NA07 ZA89 ZC20